

EXTRAÇÃO ULTRASSÔNICA DE ANTOCIANINAS DA CLITORIA TERNATEA: AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E POTENCIAL PARA APLICAÇÃO NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS

Ana Terra de Medeiros Felipe

Universidade Federal do Rio Grande do Norte – RN

Alliny Samara Lopes de Lima

Universidade Federal do Rio Grande do Norte – RN

Emanuelle Maria de Oliveira Paiva

Universidade Federal do Rio Grande do Norte – RN

Kátia Nicolau Matsui

Universidade Federal do Rio Grande do Norte – RN

Márcia Regina da Silva Pedrini

Universidade Federal do Rio Grande do Norte – RN

1 INTRODUÇÃO

O uso de plantas aromáticas e medicinais para fins terapêuticos, cosméticos, alimentares e religiosos remonta às civilizações antigas, evidenciando a longa tradição da humanidade em aproveitar as propriedades dessas espécies vegetais (Jeyaraj et al., 2021; Ez zoubi et al., 2022). Em tempos recentes, o interesse pela exploração de plantas não convencionais, especialmente aquelas ricas em compostos bioativos, cresceu significativamente devido ao seu potencial de contribuir para a saúde humana e prevenir doenças (Sharma et al., 2020; Jeyaraj et al., 2021).

Dentre essas plantas, destaca-se a *Clitoria ternatea*, popularmente conhecida como feijão-borboleta, ervilha-borboleta ou flor de ervilha azul. A *Clitoria ternatea*, pertencente à família Fabaceae, é uma planta trepadeira perene que exibe flores de coloração azul intensa, contendo antocianinas únicas denominadas ternatinas. Dada a estabilidade e intensidade do seu pigmento, além de seu uso terapêutico, esta planta tem aplicação potencial na indústria alimentícia, onde o pigmento azul extraído de suas flores é utilizado como corante natural em diversas preparações (Mota et al., 2022; Jeyaraj et al., 2021). Corantes sintéticos, embora amplamente utilizados, são frequentemente associados a potenciais efeitos adversos à saúde, levando a um interesse crescente pelos corantes naturais (Amchova et al., 2024). Entre os pigmentos naturais de destaque estão as antocianinas,



conhecidas por suas cores vibrantes que variam de azul a roxo, e por suas propriedades antioxidantes (Bendokas et al., 2020).

Figura 1. A flor da *Clitoria ternatea* coletada pelos autores.



Fonte: Autores (2024).

Esta planta é uma rica fonte de vários compostos bioativos, particularmente polifenóis, como antocianinas e flavonoides, que são conhecidos também pelas suas potentes propriedades anti-inflamatórias e anticancerígenas (Jeyaraj et al., 2021). As antocianinas, pigmentos hidrossolúveis responsáveis pelas cores vibrantes de diversas frutas e flores, têm sido amplamente estudadas devido às suas propriedades antioxidantes, que envolvem a neutralização de radicais livres, devido à estrutura polifenólica que permite a doação de hidrogênio e a estabilização do elétron livre (Li et al., 2023; Kowalczyk et al., 2024). A extração eficaz destes compostos bioativos é crucial para desbloquear todo o potencial de *C. ternatea* (Mota et al., 2022; Li et al., 2023).

Diversos métodos de extração têm sido explorados para a obtenção dos fitoquímicos da *Clitoria ternatea*, variando entre técnicas convencionais, como maceração, até técnicas não convencionais, incluindo extração assistida por ultrassom. Cada método oferece vantagens específicas, tanto em termos de eficiência de extração quanto na preservação das propriedades antioxidantes dos compostos. Estudos indicam que parâmetros como tipo de solvente, pH, temperatura e tempo de extração influenciam significativamente no rendimento e na atividade dos compostos extraídos. A utilização de solventes polares, como etanol e metanol, mostra-se eficaz na extração de antocianinas e outros compostos fenólicos, enquanto métodos assistidos por ultrassom têm mostrado maior eficiência, além de serem considerados métodos "verdes" por requererem menores tempos de extração e um menor consumo de solventes (Jeyaraj et al., 2021).

2 OBJETIVO

O presente estudo tem como objetivo investigar a extração por ultrassom assistida aplicada à *Clitoria ternatea*, avaliando o potencial dos extratos obtidos em relação à composição de antocianinas e à capacidade antioxidante pelo método de sequestro de radical (DPPH). A exploração desse método,



não convencional, representa uma oportunidade de otimização dos processos de extração, oferecendo uma abordagem sustentável e eficiente para a incorporação de corantes naturais na indústria alimentícia.

3 METODOLOGIA

3.1 COLETA

As flores da *Clitoria ternatea* foram coletadas em Extremoz, Rio Grande do Norte, Brasil, (Latitude: 5°42'32"S, Longitude: 35°11'48"O) entre setembro e outubro de 2024 e levadas para o laboratório de engenharia de alimentos (LEA) da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) de imediato.

3.2 SECAGEM

As pétalas da clitoria foram secas em estufa (Lucadema, São Paulo, Brasil) por 24 horas em uma temperatura de 50°C.

3.3 UMIDADE

Pesaram-se aproximadamente 2 gramas da amostra em cápsulas de pesagem previamente secas e taradas. As amostras foram colocadas em estufa (Lucadema, São Paulo, Brasil) a uma temperatura de 105°C até atingirem peso constante (AOAC, 2000).

3.4 ATIVIDADE DE ÁGUA

A análise foi realizada utilizando um medidor de atividade de água direto, equipado com sensor digital (Aqualab S3TE, Decagon, EUA). As amostras foram colocadas em pequenas cápsulas de amostragem fornecidas pelo equipamento, garantindo que sua superfície ficasse completamente exposta ao sensor para uma leitura precisa. As cápsulas foram inseridas na câmara de leitura do equipamento, que foi fechado e deixado estabilizar até atingir o equilíbrio com o ambiente interno.

3.5 EXTRAÇÃO

As flores secas de *Clitoria ternatea* foram extraídas utilizando água como solvente em banho ultrassônico (ALTRONIC Clean 3IA, 3 L, São Paulo, Brasil) numa frequência de 40 kHz e 100 W, sem agitação e sem temperatura, durante 75 minutos. A proporção entre as pétalas e a água foi de 2 g em 100 mL (1:50 g/mL). O pH do extrato foi ajustado para 2 com ácido clorídrico (HCl).



3.6 ANÁLISE DE ANTOCIANINAS

Após a extração, os extratos foram filtrados para remover o material sólido residual. As antocianinas presentes nos extratos foram quantificadas por espectrofotometria UV-Vis a 535 nm. O método foi descrito por Mauludifia et al. (2019) onde 1 mL do extrato foi diluído em 10 mL de uma solução tampão em pH 1 e outra diluição em solução tampão pH 4,5. A quantidade de antocianina é dada pelas equações a seguir:

$$A = ((A_{510} - A_{700}) \times \text{pH}1) - ((A_{510} - A_{700}) \times \text{pH}4,5) \quad (1)$$

$$C \text{ (mg/L)} = (A \times \text{FD} \times \text{MM} \times 1000) / (e \times b) \quad (2)$$

Onde A_{510} é a absorbância medida em 535 nm e A_{700} a absorbância medida em 700 nm. A é a absorbância resultante da equação 1, FD é o fator de diluição, MM é a massa molar do padrão em g/mol, e é o coeficiente de absorvidade molar do padrão e b é o caminho óptico dado pela espessura do espectrofotômetro.

3.7 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE (DPPH)

A atividade antioxidante pelo sequestro do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) foi determinada seguindo o método descrito por Bobo-García et al. (2014). Uma alíquota de 150 μL de uma solução metanólica de DPPH (150 μM) foi adicionada a 20 μL das amostras em microplacas de 96 poços. As misturas foram então incubadas em temperatura ambiente, no escuro, por 40 minutos, e a absorbância foi medida a 515 nm utilizando um leitor de microplacas. Os resultados são expressos pela equação 3 a seguir.

$$\text{DPPH (\%)} = ((A_{\text{controle}} - A_{\text{amostra}}) \div A_{\text{controle}}) \times 100 \quad (3)$$

3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todas as análises foram feitas pelo menos em triplicata e estão apresentadas em média \pm desvio padrão.

4 DESENVOLVIMENTO

O processo de secagem promove a remoção da umidade, possibilitando o aumento de vida útil e a concentração de componentes importantes nos materiais. Ainda, tornando os produtos submetidos a esse processo disponíveis mesmo nos períodos de entressafra (Martins et al., 2020). De acordo com a ANVISA (2015), os produtos vegetais secos ou desidratados devem apresentar teor de água (umidade) de no máximo 12%.



Tabela 1. Parâmetros físico-químicos para as pétalas de *Clitoria* secas.

Parâmetros físico-químicos	Valor médio
Umidade (%)	8,32 ± 1,05
Atividade de água (aw)	0,58 ± 0,01

Fonte: Autores (2024).

A Tabela 1 mostra o valor obtido para a umidade das pétalas de *Clitoria* secas, sendo de 8,32 ± 1,05, estando dentro da faixa indicada. Mota et al. (2022) encontraram valor bem similar, de 8,39% para a flor da *Clitoria* desidratada por ar quente. Esse controle da umidade favorece a conservação da flor, facilita o transporte, o armazenamento e o manuseio. Com isso, a flor se torna mais prática tanto para o consumo quanto para a utilização na produção de alimentos.

De acordo com a Tabela 1 é possível verificar valor de 0,58 ± 0,01 para atividade de água (aw) das pétalas de *Clitoria* desidratadas. A atividade de água é um dos principais elementos que controla o desenvolvimento das células microbianas e influencia o processo de deterioração dos alimentos (Rifna et al., 2022). Castoldi (2012) destaca que apesar de em valores de aw > 0,3 haver redução na qualidade para a maioria dos alimentos secos, no geral, o valor mínimo de atividade de água para impedir o crescimento de praticamente todos os micro-organismos é inferior a 0,6. Assim, o valor obtido no presente trabalho para atividade de água está na faixa que indica segurança microbiológica (Alp e Bulantekin, 2022). O pó obtido no presente trabalho é compatível para armazenamento e aplicações.

Figura 2. Folhas de *Clitoria ternatea* fresca (A) e desidratada em estufa (B)



Fonte: Autores (2024).

Em relação à extração de antocianinas de flores de *Clitoria ternatea* apresentam grande potencial de aplicação como ingrediente funcional e corante natural, o que tem levado a busca pela otimização desse processo (Gomez et al., 2022). Nesse estudo, a extração assistida por ultrassom das flores de *Clitoria ternatea* resultou em uma concentração de 125,2 mg/100g de antocianinas, conforme



apresentado na Tabela 2. Fatores como temperatura, tempo de extração, tipo de solvente e a relação substrato:solvente são parâmetros importantes do processo, influenciando diretamente o rendimento de extração de compostos de interesse. Em estudos recentes, Gamage e Choo (2023) obtiveram uma concentração significativamente maior de antocianinas ($700 \pm 1,68$ mg CGE/g) ao empregar solvente aquoso e ultrassom, com condições ideais de $50\text{ }^{\circ}\text{C}$, tempo de 30 minutos e razão de substrato de 1:15 (m/v). Essas diferenças nos resultados podem ser atribuídas às condições experimentais específicas, como maior temperatura e menor tempo de extração, o que destaca a importância da otimização desses parâmetros para maximizar a eficiência da extração.

Tabela 2. Concentração de antocianinas e atividade antioxidante contra o radical DPPH do extrato de *Clitoria ternatea* obtido por ultrassom

Análise	Resultados
Antocianinas (mg/100g)	$125,2 \pm 0,07$
DPPH (%)	$25,16 \pm 0,83$

Fonte: Autores (2024).

Gonçalves et al. (2024) aplicaram um delineamento multivariado para estudar o efeito de variáveis como temperatura, tipo de solvente e tempo de extração nas folhas liofilizadas de *Clitoria ternatea*, encontrando as melhores condições a $45\text{ }^{\circ}\text{C}$, 16 minutos e 22,5 mL de solução aquosa acidificada, alcançando uma concentração de 487,25 mg/100g de antocianinas. Esses resultados, embora positivos, contrastam com os do presente estudo, no qual a extração foi realizada a temperatura ambiente e por 75 minutos, sugerindo novamente a necessidade da otimização das condições do processo de extração. Em processos de extração convencionais das folhas de *Clitoria ternatea*, a maceração é uma técnica comumente aplicada. Embora esse processo ocorra em condições amenas, a utilização de longos períodos de extração e grandes quantidades de solvente é reportada. Matos et al. (2024) determinou 392,85 mg de antocianinas/100g em flores desidratadas de *Clitoria ternatea* após quatro ciclos de maceração em solução alcoólica 70% acidificada a pH 2, a temperatura ambiente, com um tempo total de 96 horas. Embora os estudos enfatizem a eficácia de vários métodos de extração, é essencial considerar o impacto ambiental e a sustentabilidade desses processos, levando em consideração o consumo de energia e o uso de solventes. Nesse contexto, o ultrassom tem sido destacado como uma alternativa sustentável, com o potencial de reduzir esses impactos (DA SILVA et al., 2023).

A *Clitoria ternatea* é fonte de compostos fenólicos, classe de compostos associados às suas atividades biológicas. Dentre elas, destaca-se o efeito antioxidante, que está associado à capacidade de sequestrar radicais livres, contribuindo para a prevenção de doenças crônicas e degenerativas (Jeyaraj et al., 2022). Conforme demonstrado na Tabela 2, o extrato apresentou uma capacidade antioxidante de 25,16% contra o radical DPPH. Em estudo similar, Gonçalves et al. (2024) reportaram uma atividade antioxidante de 17,95% para o mesmo radical, utilizando uma concentração de 4,44 mg/mL



de extrato de *C. ternatea*. Ao compararem métodos convencionais e alternativos de extração, Gamage & Cho (2023) observaram que a extração por ultrassom e micro-ondas proporcionaram maiores atividades antioxidantes contra o radical ABTS. Mehmood et al. (2019) também encontraram valores significativamente maiores de atividade antioxidante em extratos obtidos por ultrassom ($931,46 \pm 16,91 \mu\text{g Trolox/g MS}$) em comparação com a extração convencional ($764,32 \pm 23,41 \mu\text{g Trolox/g MS}$), indicando o potencial do ultrassom como método de extração eficiente de compostos antioxidantes de *C. ternatea*.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os resultados obtidos no presente estudo é possível verificar que a secagem das pétalas de *Clitoria ternatea* é eficiente na conservação do produto, mantendo a umidade dentro da faixa recomendada e controlando a atividade de água, o que contribui para a estabilidade microbiana e facilita o armazenamento e transporte. Além disso, a extração de antocianinas, um composto de grande interesse funcional e corante natural, mostrou-se eficiente quando realizada com a aplicação de ultrassom. Para maximizar o rendimento e a qualidade do produto final é necessário buscar a otimização dos parâmetros de extração, como temperatura, tempo e tipo de solvente.

Os resultados também indicam que as flores de *Clitoria ternatea* possuem potencial como fonte de compostos antioxidantes, com a capacidade de combater radicais livres, reforçando seu valor na produção de ingredientes funcionais. Apesar dos métodos convencionais de extração apresentarem bons resultados, a utilização de tecnologias alternativas, como a extração por ultrassom, é promissora tanto na eficiência do processo como na representação de uma opção mais sustentável em termos de consumo de energia e uso de solventes. Esse estudo contribui para o entendimento das potencialidades da *Clitoria ternatea* em processos industriais, ressaltando a necessidade de otimização dos processos de extração visando a maximização dos seus benefícios.



REFERÊNCIAS

ALP, D., & BULANTEKIN, Ö. The microbiological quality of various foods dried by applying different drying methods: a review. *European Food Research and Technology*, 247(6), 1333-1343, 2021.

AMCHOVA, Petra; SISKA, Filip; RUDA-KUCEROVA, Jana. Food safety and health concerns of synthetic food colors: An update. *Toxics*, v. 12, n. 7, p. 466, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxics12070466>.

ANVISA BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Consulta Pública nº 80. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 2015.

AOAC. *Official methods of analysis*. 17th ed. Gaithersburg: The Association of Official Analytical Chemists, 2000.

BELWAL, T., Cravotto, C., Prieto, M. A., Venskutonis, P. R., Daglia, M., Devkota, H. P., ... & Cravotto, G. Effects of different drying techniques on the quality and bioactive compounds of plant-based products: A critical review on current trends. *Drying Technology*, 40(8), 1539-1561, 2022.

BENDOKAS, Vidmantas; STANYS, Vidmantas; MAŽEIKIENĖ, Ingrida et al. Anthocyanins: From the Field to the Antioxidants in the Body. *Antioxidants*, v. 9, n. 9, p. 819, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox9090819>.

BOBO-GARCÍA, Gloria; DAVIDOV-PARDO, Gabriel; ARROQUI, Cristina; VÍRSEDA, Paloma; MARÍN-ARROYO, María R.; NAVARRO, Montserrat. Intra-laboratory validation of microplate methods for total phenolic content and antioxidant activity on polyphenolic extracts, and comparison with conventional spectrophotometric methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 94, n. 4, p. 749–755, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.6706>.

CASTOLDI, M. Estudo do processo de secagem de polpa de tomate por refractance window®. 2012. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.

DA SILVA, Edilene Souza; NUNES, Andréa Oliveira; HOSKIN, Roberta Targino. Ultrasound-assisted polyphenol extraction of acerola and jambolan pomaces: Comparison of extraction protocols, kinetic modeling, and life cycle assessment. *Chemical engineering and processing-process intensification*, v. 191, p. 109443, 2023.

EZ ZOUBI, Y.; LAIRINI, S.; EL AMRANI, S. et al. Ethnobotanical survey of herbs used in the preservation of food products in Fez, Morocco. *Journal of Ethnic Foods*, v. 9, p. 29, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1186/s42779-022-00144-5>.

GAMAGE, Gayan Chandrajith Vidana; CHOO, Wee Sim. Hot water extraction, ultrasound, microwave and pectinase-assisted extraction of anthocyanins from blue pea flower. *Food Chemistry Advances*, v. 2, p. 100209, 2023.

GOMEZ, Saji et al. Comparative evaluation of anthocyanin pigment yield and its attributes from Butterfly pea (*Clitoria ternatea* L.) flowers as prospective food colorant using different extraction methods. *Future Foods*, v. 6, p. 100199, 2022.



GONÇALVES, Glória Caroline Paz et al. A green method for anthocyanin extraction from *Clitoria ternatea* flowers cultivated in southern Brazil: characterization, in vivo toxicity, and biological activity. *Food Chemistry*, v. 435, p. 137575, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137575>.

JEYARAJ, Ethel Jeyaseela; LIM, Yau Yan; CHOO, Wee Sim. Extraction methods of butterfly pea (*Clitoria ternatea*) flower and biological activities of its phytochemicals. *Journal of food science and technology*, v. 58, n. 6, p. 2054-2067, 2021.

KOWALCZYK, Tomasz et al. Anti-Inflammatory and Anticancer Effects of Anthocyanins in In Vitro and In Vivo Studies. *Antioxidants*, v. 13, n. 9, p. 1143, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox13091143>.

LI, Qi; ZHANG, Fengzhen; WANG, Zhenzhen; FENG, Yaoze; HAN, Yahong. Advances in the Preparation, Stability, Metabolism, and Physiological Roles of Anthocyanins: A Review. *Foods*, v. 12, n. 21, p. 3969, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods12213969>.

MARTINS, F. P.; NETO, J. C. B.; SILVA, A. J. O.; SIQUEIRA, A. M. de O. Secagem: uma revisão. *The Journal of Engineering and Exact Sciences – jCEC*, v. 6, n. 4, p. 1-15, 2020. DOI: [10.18540/jcecvl6iss4pp0600-0607i](https://doi.org/10.18540/jcecvl6iss4pp0600-0607i).

MATOS, G. B. et al. Corante natural azul da flor comestível clitoria (*Clitoria ternatea*): extração, caracterização e estabilidade. *Observatório de la Economía Latinoamericana*, v. 22, n. 2, p. e3454, fev. 2024. DOI: [10.55905/oelv22n2-202](https://doi.org/10.55905/oelv22n2-202).

MAULUDIFIA, F.; ASTRINIA, S. D.; MEIRANTI, K. A.; DJAENI, M. Production of natural colorant powder from *Clitoria ternatea* L. using tray dryer which is dehumidified by zeolite. *Journal of Physics: Conference Series*, v. 1295, The 3rd International Conference of Chemical and Materials Engineering, 19–20 sep. 2018, Semarang, Indonesia. IOP Publishing Ltd, 2019. DOI: [10.1088/1742-6596/1295/1/012018](https://doi.org/10.1088/1742-6596/1295/1/012018).

MEHMOOD, Arshad et al. Impact of ultrasound and conventional extraction techniques on bioactive compounds and biological activities of blue butterfly pea flower (*Clitoria ternatea* L.). *Ultrasonics sonochemistry*, v. 51, p. 12-19, 2019.

MOTA, F. G.; NUNES, T. P.; DA SILVA BORGES, Â.; DA SILVA, A. G.; CONSTANT, P. B. L. Extração e quantificação de antocianinas de flores *Clitoria ternatea* desidratadas. *Research, Society and Development*, v. 11, n. 9, p. e55111932293-e55111932293, 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i9.32293>

RIFNA, E. J.; DWIVEDI, M.; CHAUHAN, O. P. Role of water activity in food preservation. In: CHAUHAN, O. P. (Ed.). *Advances in Food Chemistry*. Singapore: Springer, 2022. p. 15-28. DOI: https://doi.org/10.1007/978-981-19-4796-4_2.

SHARMA, Rajmohan; SAYYED, Mujahida; BHATNAGAR, Rajkishor. Conservation of medicinal plants: A review of threats and strategies. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, [s.l.], 2020.